

Review Paper



A Review of Bioinformatics Studies on the Function of Structural and Non-structural Proteins and the Level of Glycoprotein Inhibiting Heme Metabolism by SARS-CoV-2 Virus

*Tohid Piri-Gharaghie¹ , Sheida Beiranvand¹ , Amirhossein Ghadiri² , Sameh Hajimohammadi³

1. Department of Biotechnology, Faculty of basic science, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

2. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

3. Department of Biomedical Engineering, Faculty of Engineering, University of Eyvanakey, Eyvanakey, Iran.



Citation Gharaghie T, Beiranvand Sh, Ghadiri A, Hajimohammadi S. [A Review of Bio-informatics Studies on the Function of Structural and Non-structural Proteins and the Level of Glycoprotein Inhibiting Heme Metabolism by SARS-CoV-2 Virus (Persian)]. *Jundishapur Journal of Medical Sciences*. 2022; 21(2):176-193. <https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.2.2164>

<https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.2.2164>

ABSTRACT

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is an acute respiratory infection. Its virus called SARS-COV-2 which is an RNA virus with high homology to the bat coronavirus. In this review study, first the molecular and cellular characteristics and the proliferation and replication of SARS-COV-2 are investigated. Then, by reviewing bioinformatics studies regarding protected domain analysis, homology modeling, and molecular docking, the biological role of some specific SARS-COV-2 proteins are examined. The results showed that the open reading frame 8 (ORF8) and surface glycoprotein could bind to porphyrin. At the same time, ORF1ab, ORF10, and ORF3a can attack the heme part of hemoglobin to dissociate iron and form porphyrin. This attack reduces hemoglobin ability to carry oxygen and carbon dioxide. As a result, lung cells become severely inflamed due to their inability to exchange carbon dioxide and oxygen, which leads to large ground-glass opacities on CT scan images. Based on the bioinformatics results, chloroquine can prevent ORF1ab, ORF3a, and ORF10 from attacking hemoglobin to form porphyrin and avoid the binding of ORF8 and surface glycoprotein to porphyrin, which effectively relieves the symptoms of acute respiratory syndrome. In the current pandemic, bioinformatics studies are of great importance for preventing the spread of COVID-19, developing drugs and vaccines, and clinical practice.

Keywords SARS-COV-2, Nonstructural protein, Glycoprotein, ORF8, bioinformatics

Received: 01 Aug 2020

Accepted: 30 Dec 2020

Available Online: 01 Jun 2022

*** Corresponding Author:**

Tohid Piri-Gharaghie

Address: Department of Biotechnology, Faculty of basic science, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Tel: +98 (0919) 2812671

E-Mail: tohidpirie@yahoo.com

Extended Abstract

Introduction

On December 31, 2019, an unknown coronavirus disease was reported from China that cause acute respiratory syndrome which was named COVID-19. This virus was highly contagious and turned into a pandemic in just 3 months. It seems that the high tendency to evolve and the similarity to other viruses of the beta-coronavirus family are the main factors in the susceptibility of this virus to mutation. In all genomes of this virus, the tendency of the virus to spread are varied. However, they are common in human-to-human transmission. The virus can infect one person quickly but not infect others. It can be said that this virus is selective in choosing its host, but the reports have indicated that it has a high rate of 90% in accepting a new host. The angiotensin converting enzyme-2 (ACE-2) receptor is the receptor of SARS-CoV-2 to enter human cells. Since the expression level of ACE2 in men living in East Asian countries is higher than in other countries, this population is more susceptible to the virus. In this review study, first the molecular and cellular characteristics, proliferation, and replication of SARS-CoV-2 are investigated. Then, by reviewing bioinformatics studies conducted regarding the analysis of conserved domain and homology and molecular docking, the biological roles of some specific proteins SARS-CoV-2 are investigated.

Methods

In this study, 60 related articles were reviewed. Then, the information extracted from them were categorized including the types of SARS-CoV-2 genomes in different parts of the world and the identified proteins and structural components of these viruses. In this regard, we first reviewed the studies conducted on the genome structure of the SARS-CoV-2 and the genetic affinity of SARS-CoV-2 to the known coronaviruses. Then, the function of structural and non-structural proteins of coronaviruses was reviewed. Finally, the bioinformatics studies on open reading frames (ORFs) of the virus and the possible origin of SARS-CoV-2 were reviewed to know whether it is possible that this virus was created in laboratory or not. This section subdivided into two sections: (a) Bioinformatic study regarding that ORF8 and glycoprotein inhibit Heme metabolism by binding to porphyrin, and (b) bioinformatic study of the genome structure of SARS-CoV-2 by examining the mutation in the receptor-binding domain of SARS-CoV-2 and the polybasic cleavage site and O-glycan linkage.

Results

Analysis of SARS-CoV-2 sequences showed that this virus had a typical genomic structure of beta-coronaviruses, including: Bat SARS-like-ZC45, Bat SARS-like-ZXC21, SARS-CoV and MERS-CoV. According to the phylogenetic tree of coronaviruses (Figure 1), SARS-

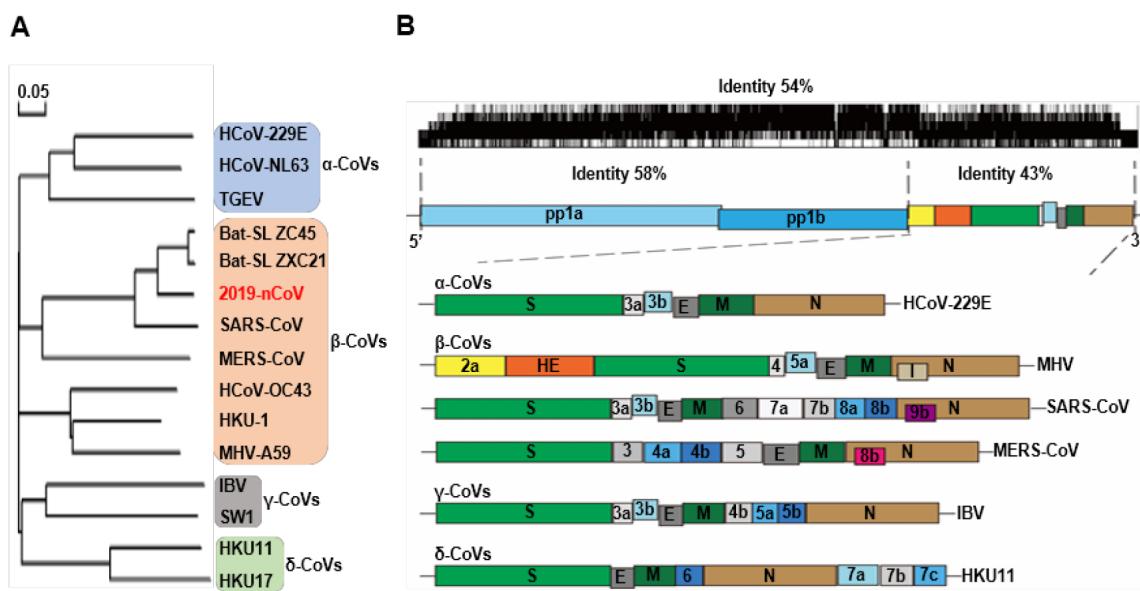


Figure 1. Genetic affinity of SARS-CoV-2 to different types of coronaviruses. (A) Phylogenetic tree of coronaviruses where the new coronavirus is highlighted in red, (B) Genome structure of four genera of coronaviruses [5]

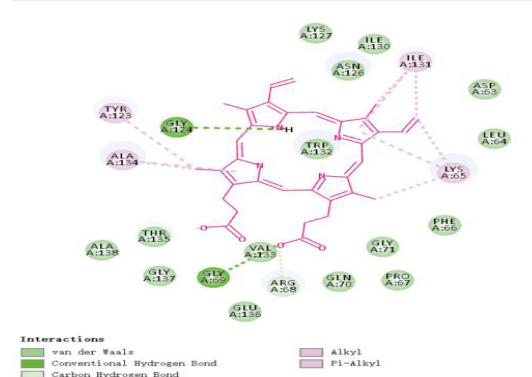
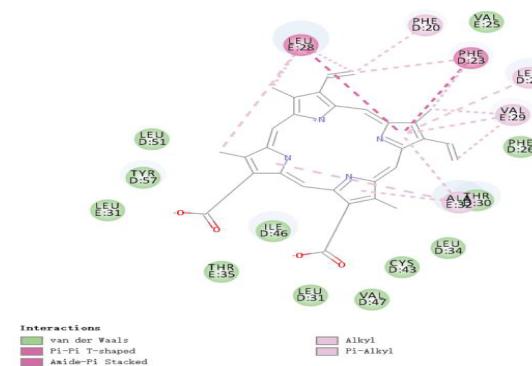
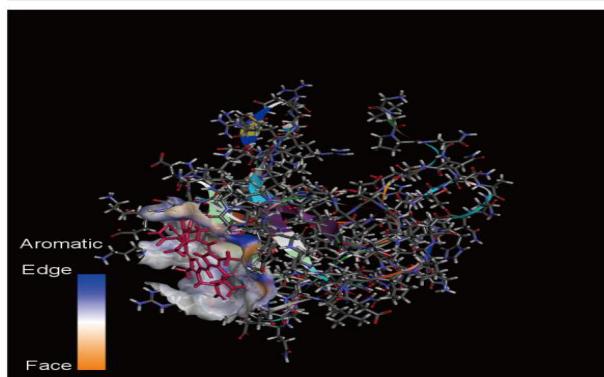
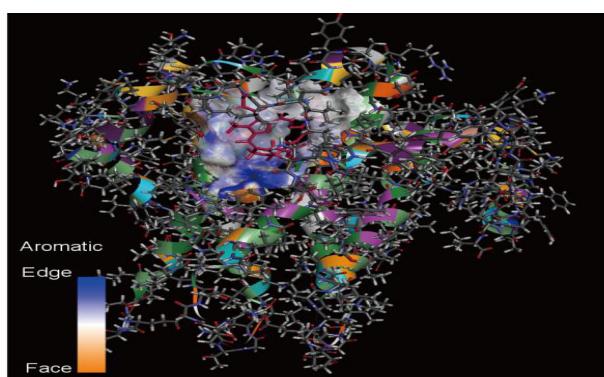


Figure 2. Two-dimensional view of the binding sections of envelope protein and nucleocapsid phosphoprotein with human porphyrin

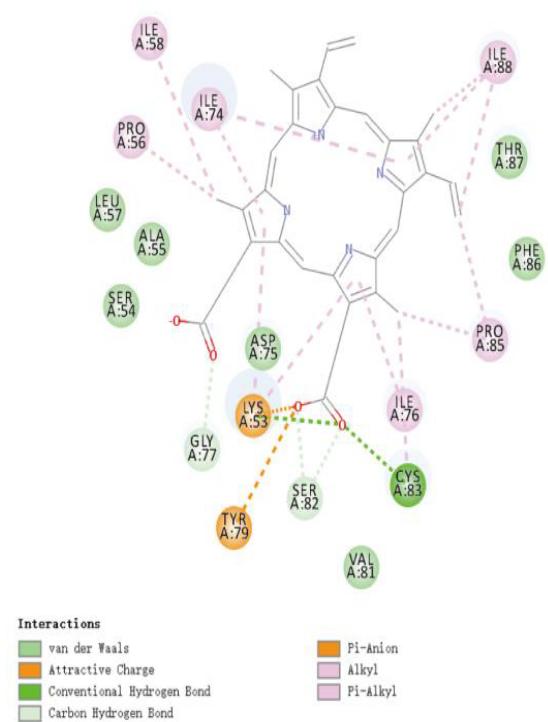
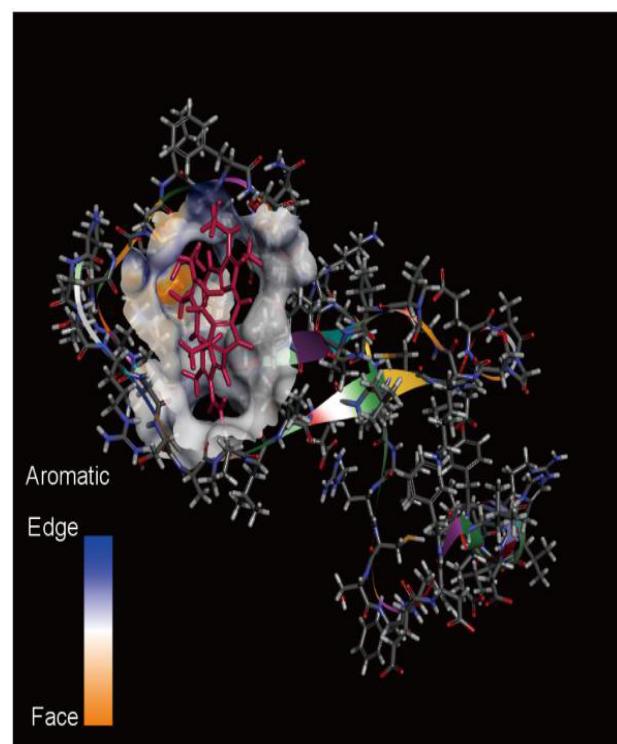


Figure 3. Two-dimensional view of the binding sections of viral non-structural protein ORF8 with human porphyrin

COV-2 had a high genetic similarity to Bat SARS-like-ZC45 and Bat SARS-like-ZXC21, while SARS-CoV had the lowest similarity to them.

In this study, it was found that ORF8 and surface glycoprotein can bind to porphyrin, and ORF1ab, ORF10 and ORF3a can attack the heme part of hemoglobin to dissociate iron and form porphyrin. This attack causes a decrease in the hemoglobin to carry oxygen and carbon dioxide. Lung cells become inflamed due to the inability to exchange carbon dioxide and oxygen, which leads to large ground-glass opacities in CT scan images.

The three-dimensional image of the structures of three viral proteins (surface glycoprotein, envelope protein, and nucleocapsid phosphoprotein) was downloaded from the PDB database. The structural model indicated the inability of the surface glycoprotein to bind to the porphyrin in Heme, while the envelope protein could bind to porphyrin. For the phosphoprotein nucleocapsid, the results indicated the ability of this protein to bind to porphyrin with the highest possible binding energy (5206.53 kcal/mol). [Figure 2](#) shows the docking results, a two-dimensional view of the binding sections of the envelope protein and nucleocapsid phosphoprotein with human porphyrin. [Figure 3](#) illustrated the two-dimensional view of the binding sections of viral non-structural protein ORF8 with human porphyrin.

Discussion

Based on the structural studies performed on SARS-CoV-2, it seems that this virus can bind to the human cell receptor ACE-2. The S protein of SARS-CoV-2 has a functional polybasic cleavage site called "Furin" at the S1/S2 boundary, which is formed by 12 nucleotides, resulting in three O-glycan binding sites around this polybasic cleavage site. Since the COVID-19 pandemic is a global problem, predictive methods to search for the protected domains of the virus are very important. Achieving the structure of protein molecules including ORF8 and nucleocapsid phosphoproteins (surface proteins) using bioinformatics study and analyzing the possibility and the method of their binding to human porphyrin in the heme part of hemoglobin is needed. According to the review of the bioinformatics studies, chloroquine can prevent ORF1ab, ORF10 and ORF3a from attacking hemoglobin to form porphyrin, and avoid the binding of ORF8 and surface glycoproteins to porphyrin to a certain extent, which effectively relieves acute respiratory symptoms. The results of bioinformatics studies are of high value in preventing the spread of COVID-19, developing drugs and vaccines, and clinical practice.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This research was written in accordance with the principles of research ethics approved by [Islamic Azad University, Shahrekord Branch](#).

Funding

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Authors' contributions

Conceptualization: Tohid Piri-Gharaghie; Research and review: Sheida Beiranvand; Editing and finalization written by: Sameh Haji Mohammadi; Amirhossein Ghadiri

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the staff members of the Biotechnology Research Center of the [Islamic Azad University of Shahrekord Branch](#) in Iran for their help and support.

This Page Intentionally Left Blank

مقاله مروری

مروری بر بررسی های بیوانفورماتیکی عملکرد پروتئین های ساختاری، غیرساختاری و سطح گلیکو-پروتئین مهار کننده متابولیسم پروتئین هم توسط کروناویروس

*توحید پیری قراقیه^۱، شیدا بیرانوند^۲، امیرحسین قدیری^۳، سامه حاجی محمدی^۴

۱. گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۲. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.

۳. گروه مهندسی پزشکی، دانشکده فنی و مهندسی، واحد ایوانکی، دانشگاه ایوانکی، ایوانکی، ایران.



Citation: Gharaghie T, Beiranvand Sh, Ghadiri A, Hajimohammadi S. [A Review of Bio-informatics Studies on the Function of Structural and Non-structural Proteins and the Level of Glycoprotein Inhibiting Heme Metabolism by SARS-CoV-2 Virus (Persian)]. *Jundishapur Journal of Medical Sciences*. 2022; 21(2):176-193. <https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.2.2164>

doi: <https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.2.2164>

چیکیده



زمینه و هدف ذات‌الریه کووید-۱۹ یک عفونت حاد تنفسی ناشی از ویروس کرونای جدید است. این ویروس، یک RNA ویروس با همولوژی بالا با کروناویروس خفash است.

(روش بررسی) در این مطالعه مروری، ابتدا ویژگی‌های سلولی مولکولی، تکثیر و همانندسازی ویروس کرونای جدید بررسی شده و سپس به کمک مطالعات بیوانفورماتیکی انجام شده درخصوص تحلیل دامین حفاظت شده ویروس، مدل سازی همولوژی، داکینگ مولکولی و نقش‌های زیستی برخی از پروتئین‌های خاص ویروس کرونای جدید بررسی شد. ORF8 و گلیکوپروتئین سطحی به ترتیب می‌توانند به پورفرین متصل شوند. ORF1ab، ORF3a و ORF10 با پروتئین هم روی زنجیره ۱ - بتا-ر هموگلوبین هماهنگ شوند تا آهن را تجزیه و پورفرین را شکل دهند. این حمله باعث کاهش هموگلوبینی که اکسیژن و دی‌اکسید کربن را حمل می‌کند، می‌شود و درنتیجه سلول‌های ریه به علت ناتوانی در مبادله کربن دی‌اکسید و اکسیژن ملتهب می‌شود. التهاب سلول‌های ریه منجر به تصاویر بزرگ توده مانند در در تصویربرداری سی‌تی اسکن می‌شوند.

یافته‌ها با توجه به تحلیل نتایج بیوانفورماتیکی، کلروکین می‌تواند از عملکرد ORF10، ORF1ab، ORF3a و ORF8 برای حمله به هموگلوبین (برای تشکیل پورفرین) جلوگیری کند. درنتیجه، تا حد معینی مانع از اتصال ORF8 و گلیکوپروتئین‌های سطحی به پورفرین می‌شود. بدین ترتیب، کلروکین می‌تواند به طور مؤثر علائم حاد تنفسی را تسکین دهد.

نتیجه‌گیری با توجه به همه گیری کرونای بیرون‌هندگان براین باور هستند که نتایج تحقیقات بیوانفورماتیکی در پیشگیری از شیوع ذات‌الریه ویروس کرونای توسعه داروها و واکسن‌ها و درمان بالینی، ارزش بالایی دارند.

کلیدواژه‌ها ویروس کرونا، روش‌های غیرساختاری، گلیکوپروتئین، ORF8، بیوانفورماتیک

تاریخ دریافت: ۱۱ مرداد ۱۳۹۹

تاریخ پذیرش: ۱۰ دی ۱۳۹۹

تاریخ انتشار: ۱۱ خرداد ۱۴۰۱

* نویسنده مسئول:

توحید پیری قراقیه

نشانی: شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، گروه بیوتکنولوژی.

تلفن: +۹۸ ۰۹۱۹ ۲۸۱۲۶۷۱

ایمیل: tohidpirie@yahoo.com

اختصاصي آنژيوناسين ۲ به عنوان گيرنده ويروس كرونا جهت ورود به سلول های انساني وجود دارد. از آنجايي که ميزان بيان آنژيوناسين ۲ در مردان شرقی، بيشتر از ديگر جمعيتي های انساني است، از اين را اين جمعيتي برای ورود ويروس به بدن بسیار مستعد هستند [۴].

ساختار ژنوم ويروس كرونا جديد

ظهور ويروس كروناي جديد به نام SARS-CoV-2 که باعث شيوخ پنومونی ذات الريه غيرمعمول در دنيا شده است، چالش بزرگی را پيش روی محققان قرار داد. چن و همکاران با توجه به جهش اين ويروس و جديد بودن آن، به تشريح ساختار ژنوم اين ويروس پرداختند و مشخص کردند SARS-CoV-2 مربوط به زيرخانواده كروناویرينا از خانواده كروناویريده از زير رده نيدووپيرالس است و اين زيرخانواده شامل ۴ جنس: گاماکروناویروس، بتاکروناویروس، آلفاکروناویروس و دلتا کروناویروس است [۵].

ژنوم ويروس كرونا RNA تک رشته سننس^۷ تقریباً ۲۴ تا ۳۴ کيلو بازي با ساختار سر^۸ و دم^۹ پلی A است. RNA ژنومي، در فرایند ترجمه مستقيماً برای ترجمه پلی پروتين 1a/1ab مورد استفاده قرار می گيرد که پروتين های غيرساخشاري را برای تشکيل كمپلکس هماندسازی رونويسی^۱ در يك ويزيكول^{۱۰} غشائي^{۱۱} کد می کند [۶]. به دنبال آن، مجموعه های ساپزنوميک^{۱۲} توسط كمپلکس هماندسازی رونويسی به شكل درون زا به روش رونويسی ناپيوسته سنتز می شوند. اين mRNA های ساپزنوميک توالي های^۵ پيشرو و انتهاهای^۳ مشترك دارند. خاتمه رونويسی و

مقدمه

در ۳۱ دسامبر ۲۰۱۹، يك ويروس كرونا ناشناخته، از چين به عنوان عامل ايجاد عفونت های حاد تنفسی گزارش شد. اين ويروس، قدرت سرايت بسيار بالاي داشت، به طوري که تنها در مدت ۳ ماه، به يك همه گيری بزرگ جهانی تبدیل شد [۱]. ويروس كرونايی که به تازگي کشف شده است، از نظر ژنتيکي با ديگر كروناویروس ها مثل سارس^۱ و مرس^۲ قرابت ژنتيکي دارد. به طور ساده تر، می توان گفت که اين ويروس، از خانواده بتاکروناویروس ها^۳ است. تعدادي از ژنوم های مهم شناسابي شده از اين گروه جديد، ايزوله و جدا شده است که در **جدول شماره ۱** انواع ژنوم مهم ويروس كرونا که تا امروز گزارش شده، نشان داده شده است [۲]. به نظر مي رسد تمایل بالا برای به تکامل رسيدن و شbahat داشتن به ديگر ويروس های خانواده، به عنوان عوامل اصلی مستعد بودن اين ويروس برای جهش باشد که به دنبال آن، تمایل ويروس به انجام تغييرات در اثر جهش، باعث بروز و شکل گيری اين ويروس جديد شده است [۳].

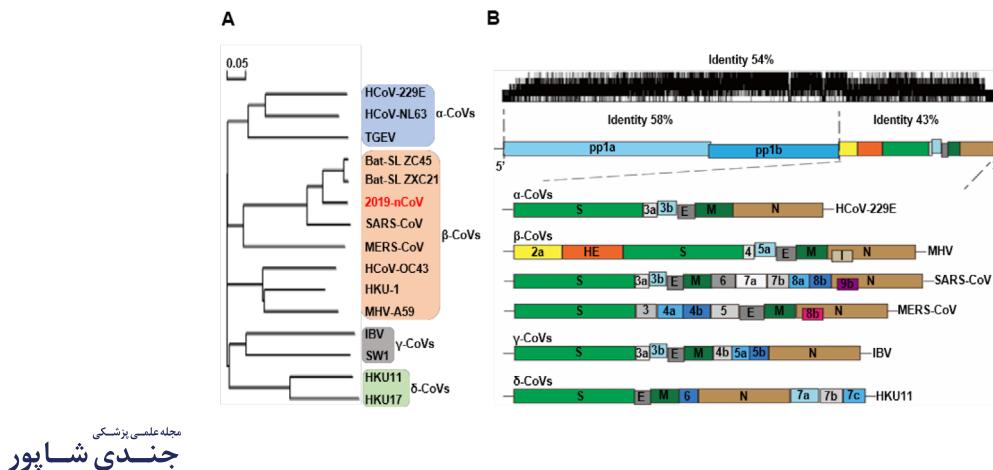
در تمامی اين ژنوم های یافت شده، تمایل ويروس به سرايت از يك انسان به انسان ديگر متغير بوده است. البته مواردي نيز وجود داشته است که افراد ناقل، ويروس را به ديگران منتقل نکرده اند؛ در مواردي هم انتقال فوق العاده بالاي عفونت از فردی به فرد دیگر مشاهده شده است. بنابراین می توان گفت ويروس از نظر انتقال از انسان به انسان، در هر دو حالت افراط دارد. اين بدان معنی است که اين ويروس می تواند يك فرد را به سرعت آلوده کند، اما فرد ديگري را مبتلا نکند. از اين روش شاید بتوان گفت که اين ويروس، در انتخاب ميزبان خود، گزینشي عمل می کند. گزارش ها حاکي از آن است که ويروس، نرخ بالاي ۹۰ درصد را در پذيرش ميزبان جديد از خود نشان مي دهد و اين به معنای همه گيری آن است [۳]. يك توافق کلي در مورد گيرنده

- 4. Gammacoronavirus
- 5. Alphacoronavirus
- 6. Deltacoronavirus
- 7. ssRNA+
- 8. . nsps
- 9. RTC
- 10. DMVs
- 11. sgRNAs

- 1. SARS
- 2. MERS
- 3. Betacoronavirus

جدول ۱. انواع ژنوم یافت شده از COVID-19

Different genomes of SARS-CoV-2	Number of predicted proteins	Orf1a poly-protein (pp1a)	E2 glyco-protein precursor	Hypothetical protein sars3a, sars6, sars7a	Matrix protein	Nucleocapsid protein
Beta CoV/Wuhan/IVDC-HB-01/2019	9	+	+	+	+	+
BetaCoV/Wuhan/IPBCAMS-WH-01/2019	9	+	+	+	+	+
BetaCoV/Wuhan/WIV04/2019	9	+	+	+	+	+
Beta CoV/Wuhan/IVDC-HB-05/2019	10	+	+	+	+	+
Beta CoV/Wuhan/IVDC-HB-04/2020	15	+	+	+	+	+
BetaCoV/Wuhan _1. MN908947.3	9	+	+	+	+	+



مجله علمی پژوهشی
جندي شاپور

تصویر ۱. قرابت ژنتیکی SARS-CoV-2 با انواع ویروس کرونای جدید. (قسمت A: ویروس کرونا جدید در درخت فیلوجنی با رنگ قرمز هایلایت شده است. قسمت B: ساختار ژنوم ۴ جنس ویروس کرونا را نشان می‌دهد) [۵]

در ویروس‌های RNA دار، نگهداری ژنومی بالین سایز بزرگ، نیازمند ویژگی‌هایی خاص است که در ویروس کرونای کمپلکس^{۱۱} با چندین آنزیم‌هایی پردازش کننده مانند^۳ و^۵ آگزوربیونوکلوئاز از nsp^{۱۴} را بیان می‌کند که مستول این عملکرد است. آنزیم^۳ و^۵ آگزوربیونوکلوئاز در بین تمام ویروس‌های RNA دار مختص کرونای ویروس‌ها بوده که به عنوان بخشی از قسمت تصحیح کننده^{۱۱} از RTC عمل می‌کند [۶]. تجزیه و تحلیل توالی‌های SARS-CoV-2 توسط چن و همکاران، نشان داد که این ویروس دارای یک ساختار ژنومی معمولی از ویروس کرونای متعلق به بتاکرونای ویروس‌ها است که از Bat-SARS-like(SL)-ZC45، Bat-SL ZXC21، SARS-CoV و MERS-CoV تشکیل شده است. مطابق با درخت فیلوجنی کرونای ویروس‌ها، SARS-CoV-2 شباهت بسیار زیاد ژنتیکی به Bat-SL-CoV ZXC21 و SL-CoV ZC45 می‌کند که شامل پروتئین‌های اسپایک^{۱۲}، غشا (M)، پوشش (E)، و پروتئین‌های نوکلئوکپسید است. علاوه بر این، ۴ پروتئین ساختاری اصلی، پروتئین‌های ساختاری خاص و همچنین پروتئین‌های جانبی دیگر مانند پروتئین HE، پروتئین 3a/b، پروتئین 4a/b و دیگر پروتئین‌های ساختاری و غیرساختاری ویروس‌های کرونا با تأکید بر SARS-CoV-2

اکثر پروتئین‌های غیرساختاری که در همانندسازی کرونای ویروس‌ها نقش کلیدی دارند، گزارش شده‌اند. با این حال، عملکرد برخی از nsps‌ها هنوز ناشناخته هستند یا کاملاً مشخص نشده‌اند [۷]. چن و همکاران به طور خلاصه، عملکرد پروتئین‌های غیرساختاری کرونای ویروس‌ها را توضیح داده‌اند که در جدول شماره ۲ نمایش داده شده است. علاوه بر این، ۴ پروتئین ساختاری برای مومنتاژ و ایجاد ویریون و عفونت ویروس‌های کرونا ضروری است [۵]. هموتریمرهایی از ۵ پروتئین‌ها باعث افزایش پروتئین‌های اسپایک در سطح ذرات ویروس می‌شود و این به عنوان کلید اتصال ویروس به گیرنده‌های

متعاقباً ایجاد یک RNA پیشرو در توالی نظراتی رونویسی^{۱۲} که در بین ORF‌ها قرار دارد، رخ می‌دهد. این RNA‌های ساپژنومیک رشته منفی به عنوان الگو برای تولید mRNA‌های ساپژنومیک عمل می‌کنند. ژنوم و زیرژنوم ۴ SARS-CoV-2 حداقل ۶ نوع بازخوانی یا ORF دارد [۵]. اولین ORF که این است، حدود دو سوم طول ژنوم بوده که از nsp1-16 را کد می‌کند. یک جهش نقطه‌ای بین ORF1a و ORF1b و pp1ab می‌شود. این پلی‌پپتیدها به روش ویروسی توسط پروتئازهای شبه کیموتراپسین^{۱۳} یا پروتئازهای اصلی^{۱۴} و یک یا دو عدد پروتئاز شبه‌پایانی^{۱۵} در nsps16 پردازش می‌شوند.

های دیگر، در یک سوم ژنوم که در نزدیکی انتهای^۳ قرار گرفته است، حداقل ۴ پروتئین ساختاری اصلی را کدگذاری می‌کند که شامل پروتئین‌های اسپایک^{۱۶}، غشا (M)، پوشش (E)، و پروتئین‌های نوکلئوکپسید است. علاوه بر این، ۴ پروتئین ساختاری اصلی، پروتئین‌های ساختاری خاص و همچنین پروتئین‌های جانبی دیگر مانند پروتئین HE، پروتئین 3a/b، پروتئین 4a/b و دیگر پروتئین‌های ساختاری و غیرساختاری ویروس‌های کرونا را کد می‌کنند [۶]. تمام پروتئین‌های ساختاری و جانبی از RNA‌های ساپژنومیک SARS-CoV-2 ترجمه شده است [۵].

نخ جهش در همانندسازی ویروس‌های RNA دار بسیار بیشتر از ویروس‌های DNA دار است و ژنوم ویروس‌های RNA دار معمولاً کمتر از ۱۰K نوکلئوتید است. اندازه ژنوم این ویروس 30Kb بوده که در بین ویروس‌های DNA دار دارای بزرگترین ژنوم هستند. اندازه این ژنوم، تقریباً ۲ برابر بزرگتر از سایر ویروس‌های RNA دار است و دومین ویروس RNA دار بزرگ از نظر اندازه ژنوم به شمار می‌رود.

12. Transcription regulatory sequences (TRS)

13. 3CLpro

14. Mpro

15. PLPs

16. SPIKE

جدول ۲: شانزده پروتئین غیر ساختاری SARS-CoV-2 و عملکرد آن‌ها

رفنس	عملکرد	پروتئین غیر ساختاری
[۲۳، ۲۲]	تغريب mRNA سلولی، مهار سیگنالینگ	Nsp1
[۲۵، ۲۴]	ناشناخته	Nsp2
[۲۷، ۲۶]	PLP، شکستن پلی پپتیدها، مسدود کردن پاسخ ایمنی ذاتی میزان، ترویج بیان سیتوکین	Nsp3
[۲۹، ۲۸]	تشکیل DMV	Nsp4
[۳۱، ۳۰]	IFN 3CL pro، M pro، شکستن پلی پپتیدها، مهار سیگنالینگ	Nsp5
[۳۳، ۳۲]	تشکیل DMV، محدود کردن گسترش اتوگلوبول	Nsp6
[۳۵، ۳۴]	کوفاکتور nsp8 و nsp12	Nsp7
[۳۶، ۳۳]	کوفاکتور nsp7 و nsp12، پرایماز	Nsp8
[۳۸، ۳۷]	نقش در دیمریزاسیون و اتصال RNA	Nsp9
[۴۰، ۳۹]	پروتئین داریستی برای nsp14 و nsp16	Nsp10
[۴۱]	ناشناخته	Nsp11
[۴۳، ۴۲، ۴۹]	پرایماز وابسته به RdRp	Nsp12
[۴۵، ۴۴]	RNA هلیکاز، ^۵ تری فسفاتاز	Nsp13
[۴۸، ۴۷، ۴۶]	N7-MTase، اکزوربیونوکلئاز	Nsp14
[۵۰، ۴۹]	اندوربیونوکلئاز، فرار از سنسورهای dsRNA	Nsp15
[۵۳، ۵۲، ۵۱]	O-MTase، تنظیم منفی ایمنی ذاتی، جلوگیری از تشخیص MDA5	Nsp16

محله علمی پژوهشی
جندي شاپور

SARS-CoV-2 نسبت به سارس تمایل بیشتری به آنژیوناسین^۲ دارد که این موضوع، بیانگر میزان بیشتر آلودگی و درصد بالاتر انتقال SARS-CoV-2 نسبت به سارس است. همچنین پروتئین‌های اسپایک-2 SARS-CoV-2^۳ نسبت به سارس انزوئی کمتری دارد که نشان از پایداری بیشتر SARS-CoV-2 دارد و ممکن است توانایی زنده ماندی در دمای‌های بالاتری نسبت به سارس داشته باشد. همچنین این امر می‌تواند بیانگر منشأ احتمالی SARS-CoV-2 از خفاش باشد، زیرا خفاش‌ها دمای بدن بالاتری نسبت به انسان دارند. علاوه بر این، RBD پروتئین SARS-CoV-2 انعطاف‌پذیری بسیار بالاتری به ویژه در نزدیکی سایت اتصال، نسبت به سارس دارد. این نشان می‌دهد که SARS-CoV-2 برای اتصال به آنژیوناسین^۲ باید بر آنتربوی بالا غلبه کند.^۴ بنابراین نسبت به سارس، در دمای بالا فعالیت کمتری دارد و با افزایش دما، بسیار کمتر از سارس باعث مرگ و میر می‌شود. برخلاف سارس که پس از سال ۲۰۰۳ از بین رفت، ممکن است SARS-CoV-2 به علت مطابقت آن با دمای بالاتر از دمای بدن انسان، توانایی زنده ماندن بالاتری در تابستان^۵ که اکثر ویروس‌ها فعال نیستند داشته باشد که این امر به علت انعطاف‌پذیری پروتئین RBD ویروس SARS-CoV-2 است. به همین دلیل SARS-CoV-2 حتی

سلول میزان عمل می‌کند. پروتئین M ۳ دامین انتقال غشایی دارد که باعث شکل‌گیری ویریون‌ها و خمیدگی غشایی می‌شود و به نوکلئوکپسید متصل می‌شود. پروتئین E در مونتاژ و رهاسازی ویروس نقش دارد و برای پاتوزن ویروس لازم است. پروتئین N شامل ۲ دامین است که هر دوی آن‌ها با مکانیسم‌های مختلف به ژنوم RNA ویروس متصل می‌شوند.^۶

همچنین گزارش شده که پروتئین N می‌تواند با اتصال به پروتئین غیرساختاری ۳ و کمپلکس، همانندسازی-رونویسی را فعال کند و به بسته‌بندی ژنوم درون ویرون کمک کند. N همچنین یک آنتاگونیست اینترفرنون است که سرکوبگر کدشده ویروسی^۷ یا از RNA اینترفرنون‌ها^۸ است که تکثیر و همانندسازی ویروسی را تسريع می‌بخشد. به احتمال زیاد، این پروتئین‌های ساختاری در SARS-CoV-2 به اتصال به رسپتورهای آنژیوناسین^۲ کمک می‌کنند و باعث تسهیل این اتصال می‌شوند. درنتیجه به ورود ویروس به سلول میزان کمک می‌کنند و باعث بالا رفتن نرخ آلودگی و انتقال می‌شوند.^۹

19. Viral encoded repressor (VSR)

20.RNAi

را انباسته خواهد کرد که باعث التهاب در بدن می‌شود و پروتئین واکنشی C و آلبومین را افزایش خواهد داد [۱۰]. سلول‌ها به وجود التهاب واکنش نشان می‌دهند و حجم زیادی از فریتین سرم را تولید می‌کنند تا یون‌های آهن آزاد را جذب کنند و به این ترتیب آسیب ناشی از آن را کاهش دهند [۱۰].

هموگلوبین شامل ۴ زیر واحد: 2α و 2β است و هر زیر واحد دارای یک قسمت هم متصل به آهن است. هم یکی از اجزای مهم هموگلوبین و یک پورفیرین آهن است. ساختار بدون آهن آن، پورفیرین نامیده می‌شود. وقتی آهن دو ظرفیتی است، هموگلوبین ممکن است دی‌اکسیدکردن را آزاد کند و اتم‌های اکسیژن را در سلول‌های آلوئولار جذب کند و باعث اکسیده شدن آهن و ۳ ظرفیتی شدن آن شود [۱۱]. وقتی هموگلوبین در بدن از طریق جریان خون در دسترس سلول‌ها قرار می‌گیرد، اتم‌های اکسیژن را آزاد می‌کند. سپس دی‌اکسیدکردن را جذب می‌کند و آهن ۲ ظرفیتی می‌شود. هیچ دارویی در حال حاضر برای درمان بیماری کووید-۱۹ وجود ندارد.

با این حال چند داروی قدیمی می‌توانند برخی از توابع ویروس را مهار کنند [۱۲]. برای مثال، کلروکین فسفات، تأثیر مشخصی بر ذات‌الریه کووید-۱۹ دارد. این دارو، یکی از داروهای ضد مalaria است. اثرات درمانی کلروکین فسفات بر ذات‌الریه کووید-۱۹ حاکی از آن است که ذات‌الریه این ویروس، ممکن است ارتباط نزدیکی با متابولیسم هموگلوبین غیرعادی در انسان داشته باشد [۱۲، ۱۱]. کلروکین، یک داروی رایج برای درمان پورفیریا است. بنابراین، این عقیده وجود دارد که ترکیب پروتئین‌های ویروسی و پورفیرین‌ها منجر به یک سری واکنش‌های پاتولوژیکال انسان مانند کاهش

21. Porphyria

در تابستان نیز عفونی است [۷]. اما شواهد نشان می‌دهد که افزایش درجه حرارت بالاتر از ۶۰ درجه باعث نابودی این ویروس می‌شود [۹، ۵].

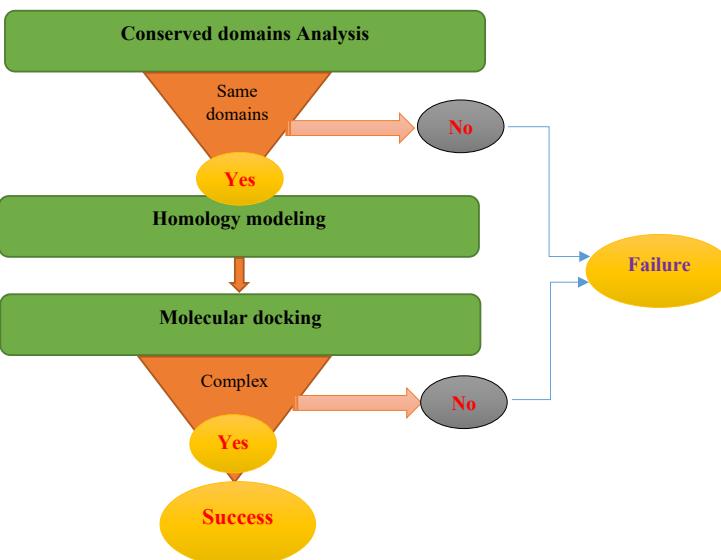
بررسی مطالعات بیوانفورماتیکی

در اینجا مروری بر مطالعات بیوانفورماتیک در مورد ORF8‌های ویروس و منشأ احتمالی SARS-CoV-2 می‌شود که آیا امکان آزمایشگاهی بودن این ویروس وجود دارد یا خیر و بدین منظور، سناریوهای مختلف ارائه شده مورد بحث قرار می‌گیرد. تجزیه و تحلیل به دست آمده به لزوم مطالعات بیشتر درخصوص آزمایشگاهی بودن SARS-CoV-2 اشاره می‌کند.

بررسی بیوانفورماتیکی ORF8 و سطح گلیکوپروتئین مهارکننده متابولیسم هم توسط اتصال به پورفیرین

باتوجه به محدودیت‌های موجود در تجهیزات آزمایشگاهی، بسیاری از نقش‌های پروتئینی-2 از جمله ORF8 هنوز نامشخص است. بنابراین در صحنه همه‌گیری اخیر، پیش‌بینی نقش بیولوژیک پروتئین‌های ویروسی از طریق بیوانفورماتیک از اهمیت علمی بالایی برخوردار است [۹]. وزانگ لیو و همکاران نیز در مطالعه‌ای بیوانفورماتیکی به پیش‌بینی نقش ORF8 این ویروس پرداختند [۱۰].

اکثر آزمایش‌های برگرفته از بیماران دارای کووید-۱۹ نشان می‌دهد که تعداد نوتروفیل‌ها در بیماران کاهش می‌یابد و مقداری شاخص فریتین سرم، سرعت رسوب اریتروسیت، پروتئین واکنشی C، آلبومین و دهیدروژن از بیماران به طور معناداری افزایش می‌یابد [۴]. این نشان‌دهنده کاهش میزان هموگلوبین در بیماران و افزایش میزان هم است. با این اوصاف، بدن بسیاری از یون‌های آهن مضر



مجله علمی پژوهشی
جندي شاپور

تصویر ۲. نمودار تحلیل‌های بیوانفورماتیکی

یک وبسایت آنلاین است که بسیاری از ابزارهای پیش‌بینی و موتیف‌ها را با هم ادغام می‌کند. موتیف یک دامین حفاظت‌شده از یک توالی کوچک در یک پروتئین است. مدل‌های مبتنی بر موتیف می‌توانند قابلیت اطمینان تحلیل فیلوزنیکی را ارزیابی کنند. پس از باز کردن ابزار آنلاین **MeMe**، توالی‌های پروتئینی موردنظر، در یک فایل متنی ادغام می‌شوند و فرمت فایل به صورت FASTA باقی می‌ماند. سپس تعداد موتیف‌هایی که قرار است پیدا شوند، انتخاب می‌شوند و با کلیک بر دکمه **go** نتایج لازم به دست می‌آید [۱۰]. در پایان تحلیل دامین‌های حفاظت‌شده پس از کلیک بر روی لینک نمایش داده می‌شود.

سوئیس مدل، یک سورور مدل‌سازی کاملاً خودکار برای ساخت مدلینگ همولوژی از ساختار پروتئین است. پس از ورود به نرمافزار وارد کردن توالی روی Search Template کلیک می‌شود و پس از تکمیل جست‌وجو، الگو برای مدل‌سازی انتخاب می‌شود [۱۱، ۱۰]. سپس جست‌وجوی الگو با کلیک بر Build Model انجام می‌شود و یک مدل الگوبه طور خودکار انتخاب می‌شود. نرمافزار، چندین الگورا جست‌وجو می‌کند و مدل‌های مختلف را رأیه می‌دهد. سپس مدل در قالب PDB دانلود می‌شود و در VMD شبیه‌سازی می‌شود. سپس داکینگ مولکولی طبق مراحل به پیش می‌رود. بدین گونه که ابتدا یک مدل لیگاند آماده‌سازی می‌شود. یک فایل لیگاند از قبیل هم باز Dock Ligands در زیر منوی Prepare Ligands از Receptor-Ligand interactions کلیک می‌شود تا یک مدل لیگاند هم برای اتصال به وجود آید.

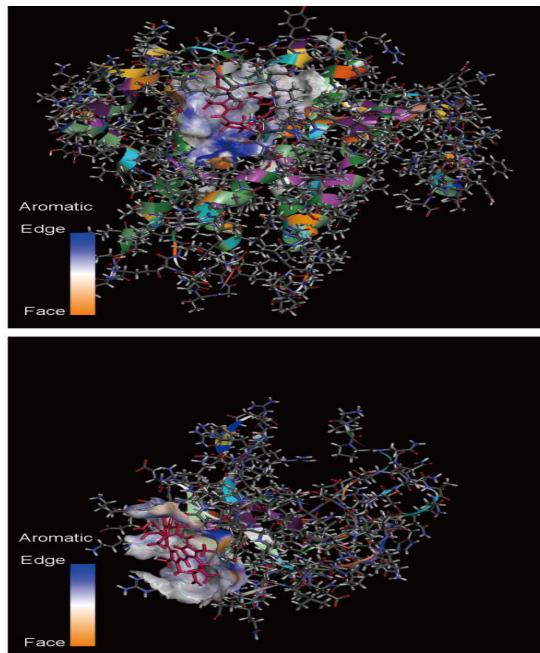
هموگلوبین می‌شود [۱۲].

گروه وزیرانگ لیو با استفاده از توالی‌های پروتئینی موجود در پایگاه **داده مرکز ملی اطلاعات زیست‌فناوری** [۲۲]، تمام پروتئین‌های ویروس کرونای جدید، پروتئین‌های متصل شونده به هم و هموکسیداز و توالی پروتئینی را برای تجزیه و تحلیل مورد استفاده قرار دادند. همچنین از تمامی پروتئین‌های ویروس کرونای جدید چینی برای ساخت سازه‌های ۳بعدی با استفاده از مدل‌سازی همولوژی استفاده شده است [۱۰]. در مطالعه این گروه، مجموعه‌ای از تحلیل بیوانفورماتیکی بر پایه توالی پروتئین زیستی منتشر شد که نتایج در تصویر شماره ۲ نشان داده شده است. در این تصویر، دامین‌های حفاظت‌شده پروتئین‌های ویروسی توسط **سورور آنلاین MeMe** [۳۳] تحلیل شده است. دامین‌های حفاظت‌شده برای پیش‌بینی تفاوت‌های عملکرد پروتئین ویروسی و انسانی مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین ساختار ۳بعدی پروتئین ویروسی با استفاده از همولوژی مدلینگ سوئیس مدل [۴۴] ساخته شد [۱۰]. چون طول توالی بیش از ۵۰۰۰ نوکلئوتید بود، ابزار مدلینگ همولوژی Discovery-Studio انتخاب شد. در انتهای با استفاده از تکنولوژی داکینگ مولکولی (Lib-Dock tool) از Discovery-Studio ۲۰۱۶ اتصال گیرنده لیگاند پروتئین ویروسی با پروتئین هم انسان شبیه‌سازی شد. روند این کار، مبتنی بر اصول تکاملی است. اگر چه مشخصه توالی بیولوژیکی شکل‌های زیستی پیشرفته و ویروسی متفاوت است، اما مولکول‌های با ساختار مشابه همیشه می‌توانند به نقش‌های زیستی مشابه دست یابند [۱۰].

22. National Center for Biotechnology Information (NCBI)

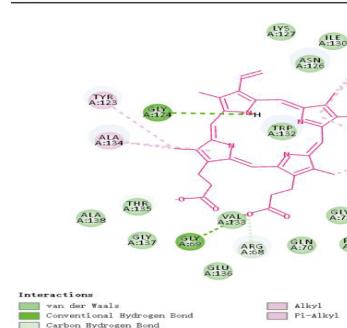
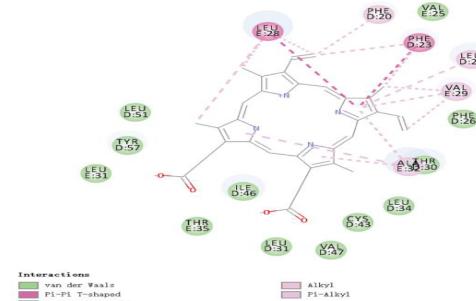
23. Multiple Em for Motif Elicitation(MeMe)

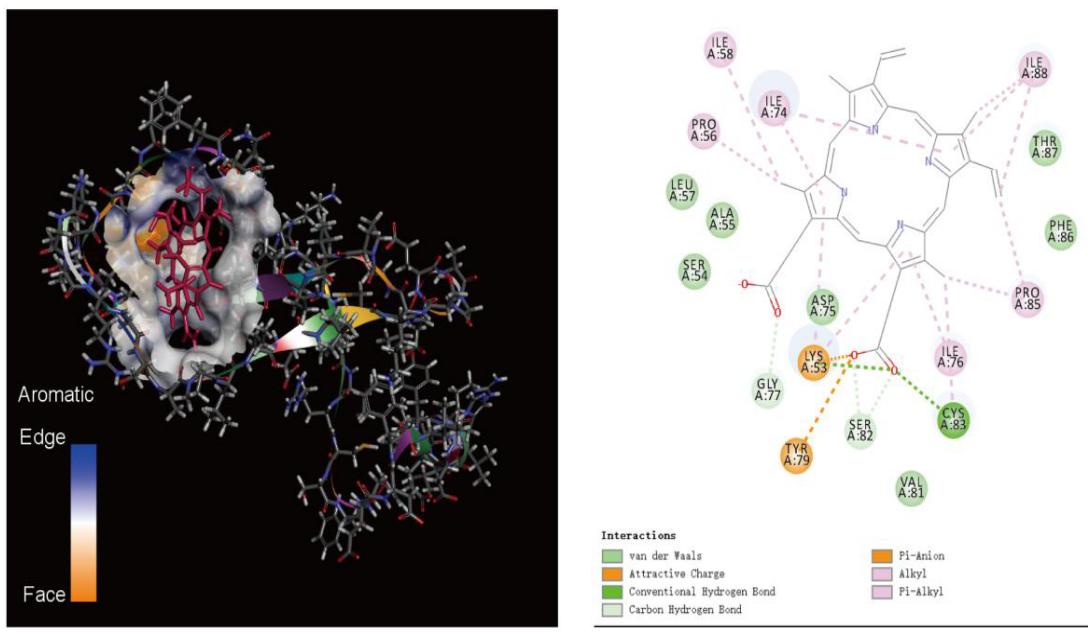
24. Swiss-MODEL



مجله علمی پژوهشی
جندي شاپور

تصویر ۳. نمای دو بعدی مقطع اتصال از پروتئین‌های غیرساختاری ORF8 ویروس با پورفیرین انسانی





جولہ علمی پزشکی

تصویر ۴. نمای ۲بعدی مقطع اتصال از پروتئین‌های پوششی و نوکلئوکپسید فسفوپروتئین ویروس با پورفیرین انسانی

می شود، سپس محاسبه انرژی اتصال آغاز می شود.

درنهایت با مقایسه انرژی اتصال بزرگترین انرژی اتصال انتخاب می شود. هرچه پایداری کمپلکس بیشتر باشد، انرژی اتصال بیشتر خواهد بود. سپس باید بخش مشترک را نمایش داد. پس از تنظیم استایل نمایشی از منطقه اتصال، روی دکمه 2D Map از زیرمنوی Receptor-Ligand interaction View موجود در pop up the view of binding sections کلیک می شود. این شکل به عنوان فایل تصویری قابل ذخیره شدن است [۱۰]، اما به عنوان نتایج حاصل از این کار می توان چنین گفت که در انسان ها هموگلوبین را می توان به ۲ بخش گلوبین و هم تجزیه کرد. قسمت هم از پورفیرین و یون آهن تشکیل می شود و یون آهن در میان پورفیرین قرار دارد [۱۱-۱۳]. همچنین در آب، نامحلول است و با پروتئین های اتصالی هم ترکیب می شود تا یک کمپلکس را تشکیل دهد و به کید منقل شود.

پورفیرین به صورت بیلیروبین تغییر شکل می‌یابد و از مجرای صفراوی خارج می‌شود و آهن موجود در مولکول می‌تواند توسط بدن مورد مصرف قرار گیرد [۱۳]. اگر پروتئین‌های ویروس بتوانند به قسمت پورفیرین از هم متصل شوند باید توانایی اتصال مشابهی را برای Heme-binding protein انسانی داشته باشند، یعنی پروتئین‌های ویروسی و Heme-binding protein انسانی باید دامنه‌های حفاظت‌شده مشابه داشته باشند [۱۴].

روش‌های گفته شده بالا برای پروتئین‌های مشابه ویروسی انجام شد و ۳ پروتئین ویروسی گلکوپروتئین سطحی، پروتئین پوششی و نوکلئوکسپید فسفوپروتئین مورد استفاده قرار گرفت و دامین‌های ۳ پروتئین کوچکی داشتند و متفاوت بودند که نشان می‌دهد توانایی

در ابتداء اتم آهن از هم حذف می شود. سپس با کلیک بر Prepare Ligands مدل پورفیرین تولید می شود. با استفاده از XT باز شده باید Prepare Ligands را دوباره برای به دست آوردن مدل لیگاند کلروکین کلیک کرد [۱۰]. سپس برای آماده سازی مدل گیرنده پروتئینی، باید فایل های PDB به دست آمده از همولوژی مدلینگ را Dock Ligands باز کرد و روی Prepare Protein در زیر منوی Receptor-Ligand interactions از گیرنده پروتئین جهت داکینگ استفاده شود. سپس باید پارامترهای داکینگ را برای به دست آوردن داکینگ تنظیم کرد. برای این کار در ادامه generated protein receptor model انتخاب می شود و از منوی Define and Edit Binding Site در زیر منوی Receptor- Ligand interactions روی receptor Cavities کلیک می شود و با این کار، دایره قرمز روی نمودار مدل گیرنده پروتئین ظاهر می شود. پس از راست کلیک کردن، می توان شعاع دایره قرمز را تغییر داد.

در منوی Receptor-Ligand interactions و زیرمنوی Ligands، گزینه Dock Ligand (LibDock) انتخاب می‌شود و از قسمت pop-up box تمام لیگاندهای جدید پیش‌بینی شده به عنوان گیرنده، newly established receptor model-ALL انتخاب می‌شود و سایتهای دایره به عنوان مختصات دایره انتخاب می‌شوند. درنهایت برای شروع اتصال روی Run کلیک می‌شود سپس پس از تکمیل اتصال، با محاسبه انرژی پیوندی و انتخاب بهترین انرژی اتصال به عنوان لیگاند، مکان‌های زیادی به نمایش گذاشته می‌شود [۱۰] که بدین منظور با باز کردن Docked view و کلیک روی دکمه Re-Dock Ligands از Caculate Binding Energies در pop-up box گیرنده به عنوان ceptor-Ligand interactions docked model-ALL انتخاب مقدار پیش‌فرض و لیگاند به عنوان گزینه ALL انتخاب

هم انسانی حمله می کنند تا آهن را برای تشکیل پورفیرین جدا کنند. پس از جدا شدن آهن از هم و تشکیل پورفیرین دو پروتئین ORF8 و گلیکوپروتئین های سطحی ویروس SARS-COV-2 با پورفیرین یک کمپلکس قوی تشکیل می دهند که مانع از باند شدن آهن به پورفیرین و در نهایت هموگلوبین می شوند که این امر باعث کاهش شدید اکسیژن رسانی به اندامها می شود [۱۰]. آنچه که ۲ کمپلکس پورفیرین تولید شده در بدن انسان، مسیرهای آنابولیک هم را مهار می کند، می تواند باعث ایجاد طیف وسیعی از بیماری های عفونی شود. با این یافته می توان چنین تصور کرد که کلوروکین می تواند از پروتئین های ORF10، ORF1ab، ORF3a، ORF3ab، ORF4ab از آن تعداد ۱۸ آمینواسید جلوگیری کند و مانع از ایجاد پورفیرین شود. به همین دلیل بین دو پروتئین ORF8 و گلیکوپروتئین سطحی کروناؤپروس، با پورفیرین بدن شخص بیمار، کمپلکس تشکیل می شود [۱۱، ۱۰].

بررسی بیوانفورماتیکی ساختار ژنوم ۲-SARS-COV

مقایسه ژنوم آلفا و بتاکروناؤپروس با هم دو نکته قابل توجه در مورد ۲-SARS-COV را مشخص می کند: در ابتدا بر اساس مطالعات ساختاری که روی SARS-COV-2 انجام شده است، به نظر می رسد که این ویروس برای اتصال به گیرنده سلول انسانی آنژیوناسین ۲ بهینه شده است. در ثانی، پروتئین S از SARS-COV-2 یک محل کلیواژ عملکردی polybasic به نام فارین در مرز S1-S2 دارد که از طریق وارد شدن ۱۲ نوکلتوتید به وجود آمده است که منجر به ایجاد سه سایت پیوندی O-گلیکان در اطراف این سایت شده است [۱۲].

موتاپیون در دامین اتصال به گیرنده SARS-COV-2

دامین اتصال به گیرنده ^۲ در پروتئین S یک بخش بسیار متغیر در ژنوم SARS-COV است. یافته ها نشان می دهند که ۶ آمینواسید RBD برای اتصال به گیرنده های آنژیوناسین ۲ و تأمین دامنه میزبان از ویروس های شبه سارس بسیار حیاتی هستند. مطابق با تحلیل های انجام شده که در مجله پژوهشکی طبیعی ^۳ چاپ شد، این ۶ آمینواسید در سارس به ترتیب ۷۴۷۲، ۷۴۴۲، ۷۴۸۷، D۴۸۰، N۴۷۹ و ۷۴۹۱۱، ۷۴۹۱۱، ۷۴۷۲، ۷۴۴۲ است که دقیقاً با آمینواسید های F۴۸۶، L۴۵۵، Q۴۹۳، S۴۹۴ و N۵۰۱ از SARS-COV-2 ازنظر محل قرارگیری مطابقت دارد [۱۳]. اما ۵ مورد از این ۶ رزیدو بین SARS-COV-2 و سارس متفاوت است (تصویر شماره ۵).

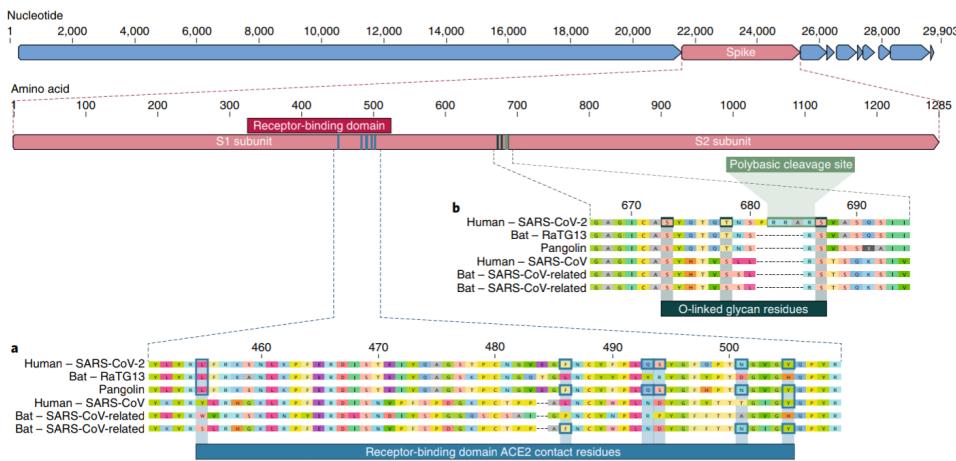
براساس مطالعات ساختاری و آزمایشات بیوشیمیابی SARS-COV-2 به نظر می رسد که قسمت RBD از SARS-COV-2 توافقی اتصال با همولوژی بالا به گیرنده های آنژیوناسین ۲ از انسان، سمور، گربه و دیگر گونه ها دارد. در حالی که تجزیه و تحلیل بالا نشان می دهد SARS-COV-2 ممکن است میل ترکیبی بالایی با آنژیوناسین ۲ انسانی داشته باشد، اما تجزیه و تحلیل محاسباتی پیش بینی می کند

پروتئین ساختاری برای اتصال به پورفیرین کمی متفاوت است. علاوه بر این، گلیکوپروتئین غشایی نمی تواند به پورفیرین متصل شود. سپس سور آنلاین سوئیس مدل سطح گلیکوپروتئین ها را برای ایجاد یک ساختار ^۳ بعدی مدل سازی کرد و دو نوع فایل بر اساس مدل پروتئین اسپایک و نمونه E2 انتخاب شد [۱۰]. سپس فایل ساختاری، حاکی از عدم توانایی گلیکوپروتئین سطحی به قسمت پورفیرین از هم بود، اما همین اقدامات برای پروتئین پوششی، حاکی از توانایی اتصال پروتئین پوششی به پورفیرین است. تصویر شماره ۳، نمای ۲ بعدی مقطع اتصال است که در آن تعداد ۱۸ آمینواسید از پروتئین های پوششی ویروس با پورفیرین انسانی تعامل دارد. اما همین اقدامات برای نوکلئوکپسید فسفوپروتئین نیز انجام شد که نتایج حاکی از توانایی اتصال نوکلئوکپسید فسفوپروتئین به پورفیرین با بالاترین انرژی اتصال ممکن یعنی mol/5206.53 kcal است. تصویر شماره ۴ نمای داکینگ را نشان می دهد که نمای ۲ بعدی مقطع اتصال از نوکلئوکپسید فسفوپروتئین ویروس با پورفیرین انسانی است [۱۳-۱۰].

اگر پروتئین های غیرساختاری بتوانند به قسمت پورفیرین هم متصل شوند، باید توانایی اتصال مشابهی با پروتئین اتصالی هم انسانی داشته باشند. سپس سور آنلاین MEME برای جستجوی دامین های حفاظت شده بین پروتئین های غیرساختاری ویروس و Heme binding protein انسانی مورد استفاده قرار می گیرد. برای مطالعه خصوصیات اتصال پروتئین ORF8 به هم همان مراحل تجزیه و تحلیل همانند پروتئین های ساختاری انجام می شود. چندین نوع شکل ساختاری متصل کردن پروتئین ORF8 به پورفیرین نشان از داشتن بالاترین سطح انرژی یعنی kcal/mol ۸۵۹/۲۵ بود. ضمن اینکه نتایج داکینگ مولکولی نیز تا ۱۰ یید کننده اتصال مناسب پروتئین ORF8 به پورفیرین و اشتراک آن ها در ۱۸ آمینو اسید دارد. تصویر شماره ۳ نمای ۲ بعدی مقطع اتصال از پروتئین های غیرساختاری ORF8 ویروس با پورفیرین انسانی است [۱۰].

از آنچه که همه گیری SARS-COV-2 به عنوان یک معضل جهانی مطرح است، روش های پیش بینی برای جستجوی دامین های حفاظت شده بسیار حائز اهمیت است. دست یابی به ساختار مولکول های پروتئین از جمله ORF8 و نوکلئوکپسید فسفوپروتئین ها (پروتئین های سطحی) با استفاده از روش های مدل سازی بیوانفورماتیکی و تجزیه و تحلیل امکان و نحوه اتصال آن به پورفیرین انسانی از قسمت هم در هموگلوبین بسیار حائز اهمیت است.

مطالعات ونزانگ لیو و همکاران نشان داد ORF8 و گلیکوپروتئین های سطحی ویروس می توانند به صورت یک کمپلکس با پورفیرین انسانی ترکیب شوند [۱۰]. همچنین این گروه نشان دادند که به ترتیب پروتئین های ORF10، ORF1ab، ORF3a به قسمت



تصویر ۵. ویژگی‌های پروتئین S از SARS-CoV-2 انسانی و مقایسه آن با دیگر کروناویروس‌ها

محله علمی پژوهشی جندي شاپور

اتصال S1-S2 فیوژ سلولی را بدون تأثیر بر ورود ویروس افزایش می‌دهد. در ویروس آنفلوآنزای مرغی، تکثیر و انتقال سریع در جمعیت‌های بهشت مترآکم مرغ برای به دست آوردن محل کلیواژ polybasic در پروتئین هماگلوتینین^{۱۸} انتخاب می‌شود [۱۸, ۱۷] که عملکردی مشابه با پروتئین S ویروس کرونا دارد.

دربافت محل کلیواژ polybasic به روش الحقایق یا رونویسی، ویروس آنفلوآنزای مرغی را بهشت بیماری‌زا می‌کند [۱۸]. این موضوع همچنین پس از ورود محل کلیواژ polybasic توسط پروتئین هماگلوتینین در محیط کشت سلولی و سپس در حیوانات مشاهده شده است. عملکرد پیوند-O-گلیکان مشخص نیست، اما این پیوندها می‌توانند یک دامین شبهموسین ایجاد کنند که اپی‌توب‌ها را محافظت می‌کند و یا می‌توانند کلیدی برای رزیدوهای پروتئین S از SARS-CoV-2 باشد [۱۹]. بسیاری از ویروس‌ها از دامین‌های شبهموسین به عنوان سپرهای دفاعی استفاده می‌کنند. اگرچه به نظر می‌رسد که پیوند-O-گلیکوزیل‌اسیون قوی است، اما مطالعات تجربی برای تعیین اینکه آیا این سایت‌ها در SARS-CoV-2 استفاده می‌شود، مورد نیاز است. در رابطه با امکان دست‌کاری آزمایشگاهی SARS-CoV-2 همان‌طور که در سطح قبل اشاره شد قسمت RBD از SARS-CoV-2 متفاوت‌تر از آنچه که از قبل بوده، برای اتصال به آنژیوناسین ۲ انسانی بهینه شده است [۲۰]. علاوه‌بر این اگر دست‌کاری زنگنه انجام شده باشد، یکی از چند سیستم زنگنه موجود برای بتاکروناویروس‌ها احتمالاً باید مورد استفاده قرار گرفته باشد. با این حال داده‌های زنگنه نشان می‌دهد که SARS-CoV-2 از هیچ‌یک از ویروس‌های استفاده شده قبلی مشتق نشده است [۲۱]، اما دو سناریو برای احتمال وجود SARS-CoV-2 وجود دارد:

که این برهمنشها ایده‌آل نیست و توالی سارس که یک توالی بهینه است، تفاوت دارد. در این توالی در سارس نسبت به SARS-CoV-2 تعاملات بهینه‌تری دارد [۱۴]. بنابراین کارایی بالای اتصال پروتئین S از SARS-CoV-2 به آنژیوناسین ۲ انسانی، به احتمال زیاد، ناشی از انتخاب طبیعی روی یک انسان یا موجوداتی است که گیرنده آنژیوناسین ۲ شباهنسانی که اجازه اتصال بهینه را به ویروس می‌دهند. این، یک مدرک کاملاً معتبر بر آزمایشگاهی نبودن ویروس SARS-CoV-2 است، اما تأیید آن نیازمند مطالعات موشکافانه بیشتر است [۱۴].

محل کلیواژ polybasic فارین و پیوند-O-گلیکان

دومین قسمت قابل توجه از SARS-CoV-2 یک محل کلیواژ polybasic (RRAR) در نقطه اتصال S1-S2 یعنی ۲ زیر واحد S است. این کار، امکان تقسیم مؤثر توسط فارین و پروتئازهای دیگر را فراهم می‌کند و در تعیین دامنه آلوگی ویروس و دامنه میزانی نقش دارد [۱۵]. علاوه‌بر این یک پرولین نیز در این محل از SARS-CoV-2 وجود دارد. بنابراین توالی واردشده به صورت PRRA است. تغییرات ایجادشده توسط پرولین به نظر می‌رسد که منجر به اضافه شدن پیوند-O-گلیکان‌ها به ۵۶۷۳، ۵۶۸۶ و ۵۶۷۸ شود که محل تقسیم و کلیواژ و انحصاری SARS-CoV-2 است [۱۶]. محل‌های کلیواژ polybasic در اصل در دودمان B از بتاکروناویروس‌ها وجود ندارند. اگرچه در دیگر کروناویروس‌های انسانی نظیر HKU1 از دودمان A این سایتها و پیوند-O-گلیکان وجود دارد [۱۵].

با توجه به سطح تنوع زنگنه بالا در اسپایک، این احتمال وجود دارد که ویروس SARS-CoV-2 با جایگاه‌های کاتالیتیک کامل در گونه‌های دیگر نیز کشف شود. همچنین عملکرد محل کلیواژ polybasic که برای تشخیص انتقال و بیماری‌زا بیوس در مدل‌های حیوانی تعیین کننده است، مشخص نیست [۱۴]. آزمایش‌هایی با ویروس سارس نشان داد که الحقایق یک محل کلیواژ فارین در نقطه

آهن را تجزیه کرده و porphyrin را شکل دهنده. این حمله منجر به کاهش میزان هموگلوبین در دسترس برای حمل اکسیژن و دی اکسید کربن می شود.

سلول های ریه به علت ناتوانی در مبادله کربن دی اکسید و اکسیژن به شدت التهاب دارند که در نهایت منجر به تصاویر ground manifold در سی تی اسکن می شوند. با این یافته های بیوانفورماتیکی و تجزیه و تحلیل بیشتر می توان فهمید که کلروکین ممکن است از حمله به هموگلوبین برای تشکیل porphyrin جلوگیری کند و مانع از اتصال ORF8 و سطحی به porphyrins تا حد معینی شود و به طور مؤثر علایم حاد تنفسی را تسکین دهد. در حال حاضر جنگ سختی بین ماده زننده و هوش ویروسی با عقل و هوش انسانی در جریان است و برای پیروزی در این نبرد، علاوه بر شناخت کافی از این ویروس مهاجم و مسری، نیاز به اتخاذ تصمیمات کنترلی صحیح و بموضع از سوی کشورها و اهتمام به انجام اقدامات محافظتی و بهداشتی شخصی است. با توجه به همه گیری کنونی، اعتقاد بر این است که نتایج تحقیقات بیوانفورماتیکی از ارزش بالایی در پیش گیری از شیوع ذات الاریه ویروس کرونا، توسعه داروها و واکسن ها و درمان بالینی برخوردارند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این پژوهش مطابق با اصول اخلاق پژوهشی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر کرد، تگارش شده است.

حامی مالی

این تحقیق هیچ گونه کمک مالی خاصی از سازمان های تأمین مالی در بخش های عمومی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرد.

مشارکت نویسندگان

مفهوم سازی: توحید پیری قرائیه؛ تحقیق و بررسی: شیدا بیرانوند؛ ویراستاری و نهایی سازی نوشتہ: سامه حاجی محمدی و امیرحسین قدیری.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، در این مقاله هیچ گونه تعارض منافعی را ندارند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از کمک و حمایت کارکنان مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر کرد در ایران تشکر می کنند.

مورد اول: انتخاب طبیعی در یک میزبان حیوانی قبل از انتقال Zoonotic

مورد دوم: انتخاب طبیعی در انسان ها پس از انتقال Zoonotic است [۱۴]. نتایج این مطالعات به لزوم مطالعات بیوانفورماتیکی بیشتر در خصوص سناریوی آزمایشگاهی بودن ویروس دلالت دارد.

نتیجه گیری

در دو دهه اخیر دو ویروس کرونا از جنس بتاکروناویروس ها به نامهای سارس و مرس باعث وحشت عمومی مداوم شدند و به مهم ترین وقایع بهداشت عمومی تبدیل شدند تا اینکه ویروس کرونای جدید ۲۰۱۹ با پنومونی وسیعی از ووهان چین گسترش یافت [۵۴]. در این مطالعه به جمع آوری مجموعه اطلاعات حاصل از پژوهش های انجام شده در خصوص کووید-۱۹ پرداخته شد. بررسی ویژگی های ویروس نشان داد همانندسازی SARS-COV-2 توسط اتصال پروتئین S به گیرنده سطح سلول شروع می شود. آنزیم سطح SLOL از نیوناسین ۲ را به عنوان گیرنده اختصاصی جهت ورود به سلول استفاده می کند. از آن جایی که میزان بیان این آنزیم در جوامع آسیای شرقی بیشتر از سایر جوامع است، لذا شیوع آن در این جوامع بیشتر از سایرین بوده است [۵۵] با توجه به خصوصیات منحصر به فرد ماده زننده کرونای جدید برای ویروس شناسان دور از انتظار نبوده است. از جمله این ویژگی های خاص می توان به میزان بالای نوترکیبی زننده اشاره کرد که هر چند سال یکبار منجر به پدیدار شدن سویه های جدید و ناشناخته می شود. دلیل این مقدار بالای نوترکیبی را می توان به طول بسیار بلند ماده زننده این ویروس در مقایسه با سایر ویروس ها، تکثیر پیچیده و میزان بالای خطای آنزیم همانندساز این ویروس و درنهایت، به دامنه میزبانی وسیع این ویروس ها در انسان ها و حیوانات مختلف نسبت داد [۵۶]. از زمان شیوع بیماری همه گیر کووید-۱۹، استفاده از بیوانفورماتیک برای تجزیه و تحلیل نقش پروتئین های کرونای ویروس جدید (مانند ORF8 و گلیکوپروتئین ۲۹ سطحی) اهمیت علمی بالای خود را یادآور شد [۵۷].

در این مطالعه، چگونگی بررسی بیوانفورماتیکی و روش های پیش بینی دامنه برای جستجوی دامنه های حفاظت شده بیان شدند. مطالعات بیوانفورماتیکی مختلف درخصوص ساختار مولکول های پروتئینی مانند ORF8 و گلیکوپروتئین سطحی با استفاده از روش های مدل سازی همولوژی و تکنولوژی داکینگ مولکولی برای تجزیه و تحلیل بخش اتصال پروتئین ویروسی به پورفرین بررسی شد [۵۸]. جمع بندی نتایج این مطالعات نشان می دهد که ORF8 و گلیکوپروتئین سطحی می توانند به ترتیب با هم ترکیب شوند تا یک کمپلکس را شکل دهند. همچنین، ORF های دیگر می توانند روی زنجیره ۱- بتا در هموگلوبین حمله کنند تا

References

- [1] Corman VM, Lienau J, Witzenrath M. [Coronaviruses as the cause of respiratory infections]. Internist (German)]. 2019; 60(11):1136-45. [\[DOI:10.1007/s00108-019-00671-5\]](https://doi.org/10.1007/s00108-019-00671-5) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [2] Guo Q, Li M, Wang C, Wang P, Fang Z, Wu S, et al. Host and infectivity prediction of Wuhan 2019 novel coronavirus using deep learning algorithm. Biorxiv preprint. 2020; 1-10. [Unpublished]. [\[Link\]](#)
- [3] Sironi M, Hasnain SE, Rosenthal B, Phan T, Luciani F, Shaw MA, et al. SARS-CoV-2 and covid-19: A genetic, epidemiological, and evolutionary perspective. Infect Genet Evol. 2020; 84:104384. [\[DOI:10.1016/j.meegid.2020.104384\]](https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104384) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [4] Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature. 2020; 579(7798):270-3. [\[DOI:10.1038/s41586-020-2012-7\]](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [5] Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. J Med Virol. 2020; 92(4):418-23. [\[DOI:10.1002/jmv.25681\]](https://doi.org/10.1002/jmv.25681) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [6] He J, Tao H, Yan Y, Huang SY, Xiao Y. Molecular mechanism of evolution and human infection with SARS-CoV-2. Viruses. 2020; 12(4):428. [\[DOI:10.3390/v12040428\]](https://doi.org/10.3390/v12040428) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [7] He J, Tao H, Yan Y, Huang S, Xiao Y. Molecular mechanism of evolution and human infection with the novel coronavirus (2019-nCoV). Biorxiv preprint. 2020; 1-19. [Unpublished] [\[DOI:10.1101/2020.02.17.952903\]](https://doi.org/10.1101/2020.02.17.952903)
- [8] Mycroft-West C, Su D, Elli S, Li Y, Guimond S, Miller G, et al. The 2019 coronavirus (SARS-CoV-2) surface protein (Spike) S1 receptor binding domain undergoes conformational change upon heparin binding. BioRxiv preprint. 2020; 1-9. [Unpublished] [\[DOI:10.1101/2020.02.29.971093\]](https://doi.org/10.1101/2020.02.29.971093)
- [9] Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. Nat Med. 2020; 26(4):450-2. [\[DOI:10.1038/s41591-020-0820-9\]](https://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [10] Liu W, Li H. Covid-19 disease: ORF8 and surface glycoprotein inhibit heme metabolism by binding to porphyrin. Biological and Medicinal Chemistry. 2020; 1-23. [\[DOI:10.26434/chemrxiv.11938173.v3\]](https://doi.org/10.26434/chemrxiv.11938173.v3)
- [11] Diao K, Han P, Pang T, Li Y, Yang Z. HRCT imaging features in representative imported cases of 2019 novel coronavirus pneumonia. Precision Clinical Medicine. 2020; 3(1):9-13. [\[DOI:10.1093/pcre/pbaa004\]](https://doi.org/10.1093/pcre/pbaa004) [\[PMID\]](#)
- [12] Quiros Roldan E, Biasiotto G, Magro P, Zanella I. The possible mechanisms of action of 4-aminoquinolines (chloroquine/hydroxychloroquine) against SARS-CoV-2 infection (covid-19): A role for iron homeostasis? Pharmacol Res. 2020; 158:104904. [\[DOI:10.1016/j.phrs.2020.104904\]](https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104904) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [13] Liu W, Li H. Covid-19: Attacks the 1-beta chain of hemoglobin and captures the porphyrin to inhibit human heme metabolism. Biological and Medicinal Chemistry. 2020; 1-28. [\[DOI:10.26434/chemrxiv.11938173\]](https://doi.org/10.26434/chemrxiv.11938173)
- [14] Chaw SM, Tai JH, Chen SL, Hsieh CH, Chang SY, Yeh SH, et al. The origin and underlying driving forces of the SARS-CoV-2 outbreak. J Biomed Sci. 2020; 27(1):73. [\[DOI:10.1186/s12929-020-00665-8\]](https://doi.org/10.1186/s12929-020-00665-8) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [15] Örd M, Faustova I, Loog M. The sequence at Spike S1/S2 site enables cleavage by furin and phospho-regulation in SARS-CoV2 but not in SARS-CoV1 or MERS-CoV. Sci Reports. 2020; 10(1):1-0. [\[DOI:10.1038/s41598-020-74101-0\]](https://doi.org/10.1038/s41598-020-74101-0)
- [16] Chan CM, Woo PC, Lau SK, Tse H, Chen HL, Li F, Zheng BJ, Chen L, Huang JD, Yuen KY. Spike protein, S, of human coronavirus HKU1: role in viral life cycle and application in antibody detection. Experimental Biology Med. 2008; 233(12):1527-36. [\[DOI:10.3181/0806-RM-197\]](https://doi.org/10.3181/0806-RM-197)
- [17] Elrashdy F, Redwan EM, Uversky VN. Why covid-19 transmission is more efficient and aggressive than viral transmission in previous coronavirus epidemics? Biomolecules. 2020; 10(9):1312. [\[DOI:10.3390/biom10091312\]](https://doi.org/10.3390/biom10091312) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [18] +++Stech O, Veits J, Weber S, Deckers D, Schröer D, Vahlenkamp TW, et al. Acquisition of a polybasic hemagglutinin cleavage site by a low-pathogenic avian influenza virus is not sufficient for immediate transformation into a highly pathogenic strain. J Virol. 2009; 83(11):5864-8. [\[DOI:10.1128/JVI.02649-08\]](https://doi.org/10.1128/JVI.02649-08) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [19] Johnson BA, Graham RL, Menachery VD. Viral metagenomics, protein structure, and reverse genetics: Key strategies for investigating coronaviruses. Virology. 2018; 517:30-7. [\[DOI:10.1016/j.virol.2017.12.009\]](https://doi.org/10.1016/j.virol.2017.12.009)
- [20] Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nature Rev Microbiol. 2019; 17(3):181-92. [\[DOI:10.1038/s41579-018-0118-9\]](https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9)
- [21] Ranjha MI, Mooneeb Ali M. Covid 19 infodemic: An analysis of myths and realities. Euro J Nat Soc Sci. 2020; 9(4):773-97.
- [22] Huang C, Lokugamage KG, Rozovics JM, Narayanan K, Semler BL, Makino S. SARS coronavirus nsp1 protein induces template-dependent endonucleolytic cleavage of mRNAs: Viral mRNAs are resistant to nsp1-induced RNA cleavage. Plos Pathog. 2011; 7(12):e1002433. [\[DOI:10.1371/journal.ppat.1002433\]](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002433) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [23] Tanaka T, Kamitani W, DeDiego ML, Enjuanes L, Matsuura Y. Severe acute respiratory syndrome coronavirus nsp1 facilitates efficient propagation in cells through a specific translational shutoff of host mRNA. J Virol. 2012; 86(20):11128-37. [\[DOI:10.1128/JVI.01700-12\]](https://doi.org/10.1128/JVI.01700-12) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [24] Graham RL, Sims AC, Brockway SM, Baric RS, Denison MR. The nsp2 replicase proteins of murine hepatitis virus and severe acute respiratory syndrome coronavirus are dispensable for viral replication. J Virol. 2005; 79(21):13399-411. [\[DOI:10.1128/JVI.79.21.13399-13411.2005\]](https://doi.org/10.1128/JVI.79.21.13399-13411.2005) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [25] Gadlage MJ, Graham RL, Denison MR. Murine coronaviruses encoding nsp2 at different genomic loci have altered replication, protein expression, and localization. J Virol. 2008; 82(23):11964-9. [\[DOI:10.1128/JVI.01126-07\]](https://doi.org/10.1128/JVI.01126-07) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)

- [26] Lei J, Kusov Y, Hilgenfeld R. Nsp3 of coronaviruses: Structures and functions of a large multi-domain protein. *Antiviral Res.* 2018; 149:58-74. [\[DOI:10.1016/j.antiviral.2017.11.001\]](https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2017.11.001) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [27] Serrano P, Johnson MA, Chatterjee A, Neuman BW, Joseph JS, Buchmeier MJ, et al. Nuclear magnetic resonance structure of the nucleic acid-binding domain of severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural protein 3. *J Virol.* 2009; 83(24):12998-3008. [\[DOI:10.1128/JVI.01253-09\]](https://doi.org/10.1128/JVI.01253-09) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [28] Beachboard DC, Anderson-Daniels JM, Denison MR. Mutations across murine hepatitis virus nsp4 alter virus fitness and membrane modifications. *J Virol.* 2015; 89(4):2080-9. [\[DOI:10.1128/JVI.02776-14\]](https://doi.org/10.1128/JVI.02776-14) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [29] Gdaleg MJ, Sparks JS, Beachboard DC, Cox RG, Doyle JD, Stobart CC, et al. Murine hepatitis virus nonstructural protein 4 regulates virus-induced membrane modifications and replication complex function. *J Virol.* 2010; 84(1):280-90. [\[DOI:10.1128/JVI.01772-09\]](https://doi.org/10.1128/JVI.01772-09) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [30] Stobart CC, Sexton NR, Munjal H, Lu X, Molland KL, Tomar S, et al. Chimeric exchange of coronavirus nsp5 proteases (3CLpro) identifies common and divergent regulatory determinants of protease activity. *J Virol.* 2013; 87(23):12611-8. [\[DOI:10.1128/JVI.02050-13\]](https://doi.org/10.1128/JVI.02050-13) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [31] Zhu X, Wang D, Zhou J, Pan T, Chen J, Yang Y, et al. Porcine deltacoronavirus nsp5 antagonizes type I interferon signaling by cleaving STAT2. *J Virol.* 2017; 91(10):e00003-17. [\[DOI:10.1128/JVI.00003-17\]](https://doi.org/10.1128/JVI.00003-17) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [32] Angelini MM, Akhlaghpour M, Neuman BW, Buchmeier MJ. Severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural proteins 3, 4, and 6 induce double-membrane vesicles. *mBio.* 2013; 4(4):e00524-13. [\[DOI:10.1128/mBio.00524-13\]](https://doi.org/10.1128/mBio.00524-13) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [33] Cottam EM, Whelband MC, Wileman T. Coronavirus NSP6 restricts autophagosome expansion. *Autophagy.* 2014; 10(8):1426-41. [\[DOI:10.4161/auto.29309\]](https://doi.org/10.4161/auto.29309) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [34] Kirchdoerfer RN, Ward AB. Structure of the SARS-CoV nsp12 polymerase bound to nsp7 and nsp8 co-factors. *Nat Commun.* 2019; 10(1):2342. [\[DOI:10.1038/s41467-019-10280-3\]](https://doi.org/10.1038/s41467-019-10280-3) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [35] Zhai Y, Sun F, Li X, Pang H, Xu X, Bartlam M, et al. Insights into SARS-CoV transcription and replication from the structure of the nsp7-nsp8 hexadecamer. *Nat Struct Mol Biol.* 2005; 12(11):980-6. [\[DOI:10.1038/nsmb999\]](https://doi.org/10.1038/nsmb999) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [36] te Velthuis AJ, van den Worm SH, Snijder EJ. The SARS-coronavirus nsp7+nsp8 complex is a unique multimeric RNA polymerase capable of both de novo initiation and primer extension. *Nucleic Acids Res.* 2012; 40(4):1737-47. [\[DOI:10.1093/nar/gkr893\]](https://doi.org/10.1093/nar/gkr893) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [37] Egloff MP, Ferron F, Campanacci V, Longhi S, Rancurel C, Dutartre H, et al. The severe acute respiratory syndrome-coronavirus replicative protein nsp9 is a single-stranded RNA-binding subunit unique in the RNA virus world. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004; 101(11):3792-6. [\[DOI:10.1073/pnas.0307877101\]](https://doi.org/10.1073/pnas.0307877101) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [38] Zeng Z, Deng F, Shi K, Ye G, Wang G, Fang L, et al. Dimerization of coronavirus nsp9 with diverse modes enhances its nucleic acid binding affinity. *J Virol.* 2018; 92(17):e00692-18. [\[DOI:10.1128/JVI.00692-18\]](https://doi.org/10.1128/JVI.00692-18) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [39] Bouvet M, Lugari A, Posthuma CC, Zevenhoven JC, Bernard S, Betzi S, et al. Coronavirus Nsp10, a critical co-factor for activation of multiple replicative enzymes. *J Biol Chem.* 2014; 289(37):25783-96. [\[DOI:10.1074/jbc.M114.577353\]](https://doi.org/10.1074/jbc.M114.577353) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [40] Ma Y, Wu L, Shaw N, Gao Y, Wang J, Sun Y, et al. Structural basis and functional analysis of the SARS coronavirus nsp14-nsp10 complex. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2015; 112(30):9436-41. [\[DOI:10.1073/pnas.1508686112\]](https://doi.org/10.1073/pnas.1508686112) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [41] Fang SG, Shen H, Wang J, Tay FP, Liu DX. Proteolytic processing of polyproteins 1a and 1ab between non-structural proteins 10 and 11/12 of coronavirus infectious bronchitis virus is dispensable for viral replication in cultured cells. *Virology.* 2008; 379(2):175-80. [\[DOI:10.1016/j.virol.2008.06.038\]](https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.06.038) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [42] Ahn DG, Choi JK, Taylor DR, Oh JW. Biochemical characterization of a recombinant SARS coronavirus nsp12 RNA-dependent RNA polymerase capable of copying viral RNA templates. *Arch Virol.* 2012; 157(11):2095-104. [\[DOI:10.1007/s00705-012-1404-x\]](https://doi.org/10.1007/s00705-012-1404-x) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [43] te Velthuis AJ, Arnold JJ, Cameron CE, van den Worm SH, Snijder EJ. The RNA polymerase activity of SARS-coronavirus nsp12 is primer dependent. *Nucleic Acids Res.* 2010; 38(1):203-14. [\[DOI:10.1093/nar/gkp904\]](https://doi.org/10.1093/nar/gkp904) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [44] Adedeji AO, Lazarus H. Biochemical characterization of middle east respiratory syndrome coronavirus helicase. *mSphere.* 2016; 1(5):e00235-16. [\[DOI:10.1128/mSphere.00235-16\]](https://doi.org/10.1128/mSphere.00235-16) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [45] Eckerle LD, Becker MM, Halpin RA, Li K, Venter E, Lu X, et al. Infidelity of SARS-CoV Nsp14-exonuclease mutant virus replication is revealed by complete genome sequencing. *PLoS Pathog.* 2010; 6(5):e1000896. [\[DOI:10.1371/journal.ppat.1000896\]](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000896) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [46] Jia Z, Yan L, Ren Z, Wu L, Wang J, Guo J, et al. Delicate structural coordination of the severe acute respiratory syndrome coronavirus Nsp13 upon ATP hydrolysis. *Nucleic Acids Res.* 2019; 47(12):6538-50. [\[DOI:10.1093/nar/gkz409\]](https://doi.org/10.1093/nar/gkz409) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [47] Bouvet M, Imbert I, Subissi L, Gluais L, Canard B, Decroly E. RNA 3'-end mismatch excision by the severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural protein nsp10/nsp14 exoribonuclease complex. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012 Jun 12;109(24):9372-7. [\[DOI:10.1073/pnas.1201130109\]](https://doi.org/10.1073/pnas.1201130109) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [48] Minskaia E, Hertzig T, Gorbalenya AE, Campanacci V, Cambillau C, Canard B, et al. Discovery of an RNA virus 3'->5' exoribonuclease that is critically involved in coronavirus RNA synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006; 103(13):5108-13. [\[DOI:10.1073/pnas.0508200103\]](https://doi.org/10.1073/pnas.0508200103) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [49] Bhardwaj K, Sun J, Holzenburg A, Guarino LA, Kao CC. RNA recognition and cleavage by the SARS coronavirus endoribonuclease. *J Mol Biol.* 2006; 361(2):243-56. [\[DOI:10.1016/j.jmb.2006.06.021\]](https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.06.021) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)

- [50] Zhang L, Li L, Yan L, Ming Z, Jia Z, Lou Z, Rao Z. Structural and biochemical characterization of endoribonuclease Nsp15 encoded by Middle East respiratory syndrome coronavirus. *J Virol.* 2018; 92(22):e00893-18. [\[DOI:10.1128/JVI.00893-18\]](https://doi.org/10.1128/JVI.00893-18) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [51] Chen Y, Su C, Ke M, Jin X, Xu L, Zhang Z, et al. Biochemical and structural insights into the mechanisms of SARS coronavirus RNA ribose 2'-O-methylation by nsp16/nsp10 protein complex. *Plos Pathog.* 2011; 7(10):e1002294. [\[DOI:10.1371/journal.ppat.1002294\]](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002294) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [52] Decroly E, Debarnot C, Ferron F, Bouvet M, Coutard B, Imbert I, et al. Crystal structure and functional analysis of the SARS-coronavirus RNA cap 2'-O-methyltransferase nsp10/nsp16 complex. *Plos Pathog.* 2011; 7(5):e1002059. [\[DOI:10.1371/journal.ppat.1002059\]](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002059) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [53] Shi P, Su Y, Li R, Liang Z, Dong S, Huang J. PEDV nsp16 negatively regulates innate immunity to promote viral proliferation. *Virus Res.* 2019; 265:57-66. [\[DOI:10.1016/j.virusres.2019.03.005\]](https://doi.org/10.1016/j.virusres.2019.03.005)
- [54] Singhal T. A review of coronavirus disease-2019 (covid-19). *Indian J Pediatr.* 2020 Apr;87(4):281-86. [\[DOI:10.1007/s12098-020-03263-6\]](https://doi.org/10.1007/s12098-020-03263-6) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [55] Zamorano Cuervo N, Grandvaux N. ACE2: Evidence of role as entry receptor for SARS-CoV-2 and implications in comorbidities. *Elife.* 2020; 9:e61390. [\[DOI:10.7554/elife.61390\]](https://doi.org/10.7554/elife.61390) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [56] Lam TT, Jia N, Zhang YW, Shum MH, Jiang JF, Zhu HC, et al. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature.* 2020; 583(7815):282-85. [\[DOI:10.1038/s41586-020-2169-0\]](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2169-0) [\[PMID\]](#)
- [57] Islam MR, Hoque MN, Rahman MS, Alam ASMRU, Akther M, Puspo JA, et al. Genome-wide analysis of SARS-CoV-2 virus strains circulating worldwide implicates heterogeneity. *Sci Rep.* 2020; 10(1):14004. [\[DOI:10.1038/s41598-020-70812-6\]](https://doi.org/10.1038/s41598-020-70812-6) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [58] Piri Gharaghie T, Beiranvand S, Doosti A, Ghadiri AH, Haji Mommadi S. A review of the epidemiology and clinical signs of SARS-COV-2. *New Cell Mol Biotechnol J.* 2020; 11(41):103-20. [\[DOI:10.1001.1.22285458.1399.11.41.4.8\]](https://doi.org/10.1001.1.22285458.1399.11.41.4.8)